

IMPACTOS DA EXPOSIÇÃO AO QUIMIOTERÁPICO 5-FU SOBRE A MORFOLOGIA DA PRÓSTATA DE RATOS Wistar

Letícia Ganem Rillo Paz Barateiro (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Jaqueline de Carvalho Rinaldi (Co-orientadora), Pedro Luiz Zonta de Freitas, Lilian Catarim Fabiano, Nilza Cristina Buttow, Eneri Vieira de Souza Leite Mello (Orientadora), e-mail: enerileite@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Ciências Biológicas – Morfologia

Palavras-chave: quimioterapia, antimetabólito, histologia prostática.

Resumo:

A quimioterapia é um método muito utilizado no tratamento do câncer. Dentre os quimioterápicos existentes, há uma escassez de dados mapeando os impactos do antimetabólito 5-Fluoruracil (5-FU) na próstata. Assim, o objetivo desse projeto foi analisar a morfologia desse órgão após exposição ao 5-FU em posologia semelhante ao tratamento humano. Foram utilizados 12 ratos *Wistar* machos, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, divididos em 2 grupos (n=6): grupo controle (CTR), com administração intraperitoneal de PBS; grupo exposto ao 5-FU (QFU), administrado pela mesma via com 5-FU na dose de 15 mg/kg por 4 dias consecutivos, 6mg/kg por 4 dias alternados e, com uma dose final igual a 15mg/kg. Após a eutanásia, a próstata foi coletada, fixada em metacarn, dissecada, incluída em parafina e submetida a cortes semiseriados de 5 µm de espessura corados com Hematoxilina e Eosina para avaliação morfológica glandular e morfometria da altura epitelial, e com Picosírius Red para avaliação semiquantitativa do colágeno da matriz extracelular. Os cortes foram fotodocumentados sob microscopia de luz e os dados submetidos à análise estatística. Observou-se diferença estatisticamente significativa na proporção entre compartimentos glandulares e na mensuração do colágeno presente no estroma glandular. Portanto, conclui-se que a exposição ao 5-FU alterou a morfologia prostática.

Introdução

A quimioterapia, amplamente utilizada no tratamento do câncer, é um método que bloqueia o crescimento e divisão celular exagerados. No entanto, os fármacos utilizados não atingem somente as células malignas, mas sim, qualquer célula que esteja em rápida divisão, gerando efeitos colaterais ao organismo. Dentre os tipos de antineoplásicos, um dos quimioterápicos mais utilizados, da classe dos antimetabólitos é o 5-fluoruracil (5-FU), capaz de interferir no material genético e no metabolismo das células (SCHULZE, 2007).

Estudos descrevem que a administração de 5-FU promove toxicidade e alterações morfológicas na parede intestinal. No entanto, há uma escassez de dados dos impactos promovidos em muitos órgãos, por exemplo na próstata, glândula com função de secretar um líquido alcalino para proporcionar condições viáveis aos espermatozoides desde a ejaculação até a fecundação.

Materiais e métodos

O estudo desenvolvido recebeu aprovação do CEUA – UEM (Parecer número 4422140918). Foram utilizados 12 ratos *Wistar* (*Rattus norvegicus albinus*), machos, com peso corporal aproximado de 270 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, e alojados em condições padrões ambientais e alimentares. Os animais foram divididos em dois grupos (n=6): grupo controle (CTR), com administração intraperitoneal de PBS; grupo exposto ao 5-FU (QFU), administrado pela mesma via, com 5-FU da marca Neugrast® (fluoruracila) na dose de 15 mg/kg, por 4 dias consecutivos, 6mg/kg por mais 4 dias alternados e, com dose final igual a 15mg/kg no 14º dia experimental, posologia semelhante à humana. No 15º dia, a eutanásia foi realizada por superdosagem letal de Tiopental Sódico® na dose de 120 mg/kg de peso corporal por via intraperitoneal. A próstata foi dissecada em lobos (ventrais, dorsolaterais e anteriores), fixada em metacarn por 5 horas e submetida ao processamento histológico de inclusão em blocos de parafina. De cada lobo, foram obtidos 4 cortes semiseriados por lâmina, com espessura de 5 µm, por meio de micrótomo rotativo. Para cada animal foram coradas duas lâminas por lobo: uma com Hematoxilina e Eosina, para avaliação da morfologia glandular, morfometria de altura epitelial e proporção parênquima-estroma e; outra com o corante Picrosírius Red para mensuração de colágenos tipo I e III.

Os cortes corados com Hematoxilina e Eosina foram fotodocumentados por meio de microscópio de luz (Olympus BX50® - Minato – Ku, Japão), totalizando 30 imagens por lobo de cada animal. A morfometria glandular pelo método de *Weibel* (1963) foi realizada em 20 imagens por lobo capturadas com objetiva de 10x para os lobos ventral e anterior, e 20x para o dorsolateral. As outras 10 imagens de cada lobo foram capturadas com objetiva de 40x para avaliação da altura epitelial em 20 células por foto, através do programa Image Pro-Plus® (v. 4.5). Em relação às lâminas coradas com Picrosírius Red, 20 imagens por lobo de cada animal, com objetiva de 20x, foram capturadas por microscopia de polarização por meio do uso do microscópio *Nikon® Eclipse 80i* (Nikon, Tóquio, Japão). Estas também foram avaliadas pelo programa Image Pro-Plus® (v. 4.5), distinguindo os colágenos I e III pelo seu padrão de cor característico (vermelho e verde, respectivamente).

Os dados obtidos passaram pelo teste de normalidade por meio do programa BioEstat 5.3 e análise estatística pelo teste t de student, quando paramétricos, e pelo teste Mann-Whitney, quando não paramétricos, utilizando o programa GraphPad Prism® 5 (Copyright GraphPad Software, Inc.).

Resultados e Discussão

Apenas na análise de altura epitelial não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos em nenhum lobo prostático avaliado. Em relação ao método de *Weibel* (Figura 1), o lobo dorsolateral ou próstata dorsolateral (PDL) apresentou redução da

proporção epitelial e aumento da luminal nos expostos ao quimioterápico, o que sugere menor atividade celular e comprometimento na liberação da secreção glandular. Além disso, no lobo anterior ou próstata anterior (PA), houve aumento do estroma do grupo QFU em comparação ao grupo CTR, indicando atrofia dos ácinos prostáticos desse lobo, ou alterações na própria composição estromal. Não houve diferença significativa entre os grupos no lobo ventral ou próstata ventral (PV).

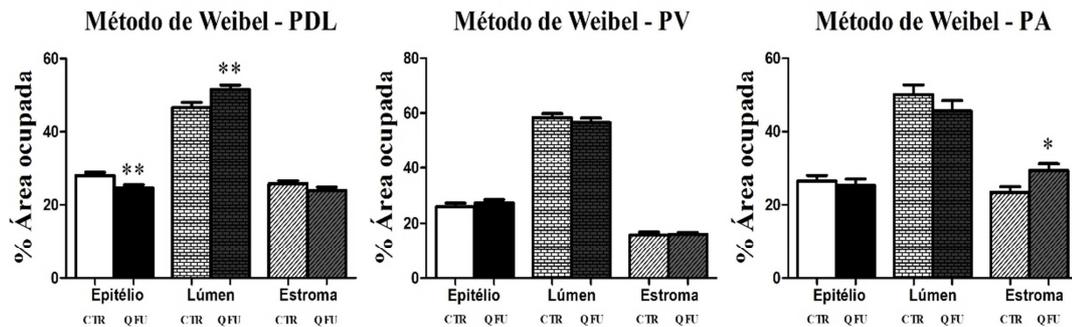


Figura 1 – Representação gráfica da análise morfológica pelo método de Weibel.

Na densitometria do colágeno (Figura 2), observou-se redução significativa ($p < 0,05$), entre os grupos, no colágeno tipo I da PDL e PV e aumento significativo no colágeno tipo III da PV do grupo QFU comparado ao CTR. Esse resultado indica o remodelamento da matriz extracelular, frente a alguma injúria ao colágeno maduro, provocada pelo agente químico administrado ou frente à uma possível diminuição dos níveis de andrógenos.

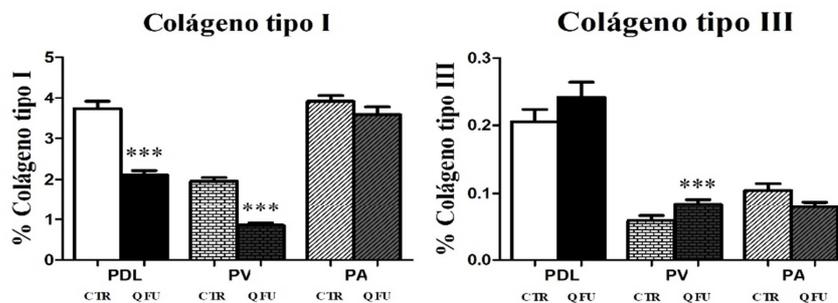


Figura 2 – Valores médios da área ocupada pelo colágeno tipo I e tipo III nos diferentes lobos prostáticos dos animais dos grupos CTR e QFU.

Já foi relatado que a atividade epitelial e estromal da próstata é regulada pelos níveis de andrógenos e, que os lobos prostáticos de roedores se comportam de formas diferentes em resposta a hormônios, como a testosterona. Um aumento deste, é capaz de reduzir a área luminal de todos os lobos e causar hiperplasia epitelial no lobo dorsolateral. Já, uma redução desse andrógeno, possibilita a remodelação dos componentes da matriz extracelular, como uma maior deposição de colágeno e aumento de fibras musculares no estroma prostático (FELIX-PATRÍCIO et al., 2017; ROCHEL, 2006).

No trabalho de Yoon et al. (2009), o 5-FU apresentou-se capaz de reduzir os níveis de testosterona e aumentar os de FSH e LH, alterando o aparelho reprodutivo de camundongos. Além disso, a própria bula da fluoruracila Neugrast® indica que o 5-FU é capaz de comprometer o sistema reprodutor, especialmente na função testicular e conseqüentemente, na produção de espermatozoides. Dessa forma,

nossos resultados demonstram uma possível redução dos níveis de andrógenos frente ao agente químico administrado, proporcionando alterações glandulares na próstata de ratos *Wistar*. No entanto, mais análises devem ser realizadas em seqüência para confirmação da hipótese levantada.

Conclusões

Conclui-se que a administração de 5-fluoruracil com posologia semelhante à humana promoveu alterações na morfologia prostática de ratos *Wistar*.

Agradecimentos

Às orientadoras, aos colaboradores do Departamento de Ciências Morfológicas da UEM e aos órgãos financiadores pelo apoio científico.

Referências

FELIX-PATRÍCIO, B. et al. The prostate after castration and hormone replacement in a rat model: structural and ultrastructural analysis. **International Brazilian Journal of Urology**, v. 43, n. 5, p. 957-965, 2017;

ROCHEL, S. S. **Variações regionais e efeitos da castração nos lobos dorsal e ventral da próstata do gerbilo da mongólia (*Meriones unguiculatus*)**. 2006. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2006;

SCHULZE, M. M. Tratamento quimioterápico em pacientes oncológicos. **Revista Brasileira de Oncologia Clínica**, v. 4, n. 12, p.17-23, 2007;

WEIBEL, E. R. Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. **Laboratory Investigation**, v. 12, p. 131-155, 1963;

YOON, F. H. et al. Alterations in hormone levels after adjuvant chemoradiation in male rectal cancer patients. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, v. 74, n. 4, p. 1186-1190, 2009.